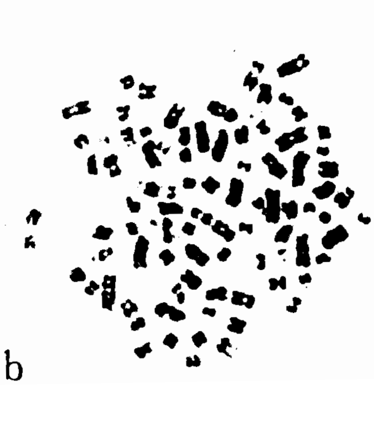
蔡有余等：马外周血淋巴细胞染色体的三种带型（G带、C带和Ag—NORs带）

Cai Youyu et al.: The Banding Patterns of Domestic Horse (*Equus Caballus*) Chromosomes

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
27 28 29 30 31 XY

a

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
27 28 29 30 31 XX



b

图 I

a示雄马G带核型

b示雌马G带核型

马 (*Equus caballus*) 外周血淋巴细胞染色体的三种带型 (G带、C带和Ag-NORs带)

蔡有余　李胜利*　须昌隆**

(中国医学科学院基础医学研究所)

马驴骡的细胞遗传学研究已有不少报道 (Hsu et al., 1967; Benirschke et al., 1964; Benirschke et al., 1964; Benirschke et al., 1965; Short, 1974)。70年代初，用人类染色体显带技术，有学者 (Ryder, 1978) 从进化角度探讨马科种属的起源、进化和杂种不育等问题。在国内除了我们报道了马、驴和牠们的杂种马骡和驴骡的核型外 (李胜利等, 1982)，至今尚未见有关于马科动物的细胞遗传学研究报道。本文的目的就马 (*Equus caballus*) 染色体的三种带型作初步的介绍，以促进马科动物核型、染色体带型、杂种不育以及进化等方面的细胞遗传学的研究。

材料和方法

材料　从北京郊区北京军区畜牧防治研究所提供的雌雄马 (*Equus caballus*) 各2头。

方法　按吴氏(吴旻等, 1964)法稍加修改，即

(一) 用肝素 (500国际单位/毫升)润湿20毫升的注射器，从动物颈静脉取血10—15毫升，然后立刻转入20毫升离心管中，4°C冰箱静置1—2小时，取上层含淋巴细胞的血浆4—5毫升，等分于两个培养瓶内，每瓶含培养液15毫升〔内含小牛血清3毫升，RPMI 1640 12毫升，青霉素1500国际单位，链霉素1500微克，PHA(广州医工所生产) 0.5毫克〕，置37°C恒温箱培养72小时，终止培养前4—6小时在培养瓶内加入秋水仙素 (使培养液的最终浓度为0.08—0.1微克/毫升)。收获细胞，经低渗固定处理，制备染色体标本。

(二)G分带：按稍加改进Backland等人(Buckland, 1976(的方法，即标本在70—80°C烘烤2小时，取出凉至室温，再转入2×SSC盐液 (0.3*M* NaCl+0.03*M* Na-citrate) 中60°C处理30分钟，蒸馏水冲洗去盐液，再置1:99的0.25%胰酶和0.85% NaCl液中消化

本文1982年6月22日收到，1983年8月30日收到修改稿。
* 北京军区兽医防治检验所。
** 四川阆中县肿瘤防治工作队。

2—5分钟。片龄3—5天只需消化2分至2分20秒钟即可，Giemsa磷酸缓冲液染色，一般可获良好的G带。

(三) C分带方法：按Sumner法 (Sumner, 1971) 稍加改进，即60°C 2×SSC液中延长处理至10—16小时，即可获得优良的C带标本。

(四) 氨银染色的核仁组织者(简称Ag-NORs)法：按我室的方法(蔡有余等，1980)加以改进，用1:7的50%$AgNO_3$与0.2%甲酸 (pH 2-3) 混合，滴加于载片上，盖上擦镜纸，于60°C水浴中3—5分钟，蒸馏水冲洗，1:50 Giemsa磷酸盐缓冲液染色2—3分钟，双蒸馏水冲洗，晾干便可在油镜下分析计数。

结　果

雌雄马各2头，每头分别选择5—10个分散良好、长度适中、三种带型清晰的中期相在油镜下观察、照象、对放大照片的染色体进行剪贴、配对分析，其结果如下。

(一) **G带**　马的核型为2n=64，除XY性染色体外可区分为两组 (Hsu et al., 1967; Ryder et al., 1978; Buckland et al., 1976)。A组 (1—13对)：为中或亚中着(丝粒染色体。B组 (14—31对)：为端或近端着丝粒染色体。我们选择了G带型清晰的22个中期相进行了分析，在A组染色体中：

1号：为最大号染色体，短臂 (简称P) 有两条带，近着丝粒1条正带着色深而宽大，远离着丝粒的1条带窄狭色浅。在染色体长带型清晰的标本中近心端1条还可细分为两条正带。着丝粒处着色浅或无色。长臂 (简称q) 一般可见有4条深带，末端1条着色深，仅靠这条带的是1条宽大的深带，有的可进一步细分为两条窄狭的正带。

2号：p末端深染色，从末端至着丝粒颜色为渐次变浅的3条正带。q深染色，有2条宽大的正带。

3号：p中部有1条深带，着丝粒处无色或浅色。q有明显的3条正带，近基部和末端的1条带深染色，均比中间1条带宽大。

4号：p整个臂深色，呈1条宽大的正带。q常见有3条深带。

5号：为中着丝粒染色体，p和q均有2条深带，通常p的2条带较q的2条清晰，染色也较长臂深。

6号：q基部的1条带较末端的1条带宽大，但不及7号基部的1条宽大，这是该号与7号的鉴别特征。

7号：q有2条正带，近心端的1条特别宽大，着丝粒负染色。

8号：p、q均有泾渭分明的正带，p 2条q 3条，不经配对便能从油镜下加以识别。

9号：类似6、7两号，p中部有1条深色正带。q 2条深带，近心端1条大于末端的1条，但不及6、7两号近心端的1条宽大。

10号：最大的特征是整个染色体和着丝粒深染色，不能区分出带。

11—13号：为A组中较小的3对染色体，12号为中着丝粒染色体，p、q各有1条正带。11和13对为亚中着丝粒染色体，长、短臂着色深，隐约均可见1条正带。

B组染色体（14—31对）：为端或近端着丝粒染色体。

14号：通常见有连续窄狭的5条深带，是这组带型最为清晰的1对染色体。

15号：臂中有1条负带，负带的两边均可有3条正带，末端深染。

16号：通常有5条深带，靠着丝粒的3条带比末端的两条宽大。

17号：q1/3处有1条负带，近心端1条为深色正带，负带至末端有2条较宽大的正带。有的不能辨认出带型。

18号：臂的中部有1条浅带，紧靠着丝粒有1条负带，邻接1条宽大的正带，末端有2条正带。

19—31对的带型除21对带型清晰外，其余不易辨认，故不加描述。

X：p有2条正带，1条在臂中，1条靠近着丝粒，q有连续的5条正带。

Y：相当于最小号常染色体，着丝粒处有1窄狭的深色正带。q末端为1条浅色的正带。

（二）**C带**　20个C带细胞的分析，绝大多数染色体的着丝粒区显示块状异染色质，但有些染色体如5号两个同源染色体、10、11号全部或一个同源染色体并不显示C带异染色质。此外，全部Y和X q2/3处，1号p末端也显示了C带异染色质。这些异染色质特征均有助于对个别染色体的鉴别。

（三）Ag-NORs

在50个中期细胞的观察中，每个中期相出现的Ag-NORs数波动于2—5个之间，统计分析，有5个Ag-NORs的细胞占总细胞数的7.69%，有4个Ag-NORs的占总数的26.96%，有3个Ag-NORs的占34.62%，有2个Ag-NORs的占总数的30.76%，绝大多数分布在1和13对染色体上，其余散在于23、24和29各对染色体上。

讨　　论

（一）**G分带**　A组（1—13）的每一对染色体易于鉴别，其中第一对染色体最长大，带型多。5、10和12号均为中着丝粒染色体。5号p、q臂均有两条正带，短臂的2条正带清晰，着色深。10号长、短臂均深染色。12号p、q各有1条正带，而且整个染色体又明显地小于5、10两对。因此对这三对染色体易于从A组中识别。2、3、4对染色体可直接从它们短臂的特征加以鉴别：2号的短臂末端着色深，长臂有明显的3条宽大的正带；3号整个短臂比2号短臂p着色深，且长臂正带不及2号清晰。4号着丝粒位置比前2对更靠近末端，长臂近着丝粒处有1特别宽大的正带，故而这三对染色体也易于区分。6、7、9三对染色体的形态大小及带型均相似，主要从长臂的正带加以区分：7号近着丝粒有一条特别宽大的正带，6号为两个大小相等的深带，9号的两条正带靠近末端，对这三对染色体易于从带型识别。8号最突出的特征是短臂2条深带，长臂3条深带，在油镜下能直接加以识别，除此之外，11和13对的特征是11号明显的大于13号，11号长臂近心端有一突出的深色正带，而13号p、q均各有一条深色正带。从上述这些鉴别特征便能逐一的把每条染色体识别开来，与文献(Buckland et al., 1976）描述的G带完全一致。

B组（14—31）：为端或亚端着丝粒染色体，我们的结果不如文献（Buckland et

al., 1976）描述的易于区分，从文献的照片看，亦不易对各号染色体加以鉴别，也未见绘制模式图（Idiogram）。我们根据对22个中期相G带的综合分析，尽可能对各号染色体带型加以描述，并与Backland等人的工作加以比较，发现他们描述的15号染色体正是我们描述的14号。对10个G带核型中的14、15两对染色体的相对长度的测量（长度均数分别为7.95μm和7.7μm）也证明，我们描述的14、15号分别是Backland的15、14两号染色体。因此在没有统一的国际标准G带模式图之前，我们的这种排列是比较正确的。除了上述不同之处，Y染色体的带型也是绝然不同的，我们在着丝粒处发现一条深带和q末端一条浅色正带，而Backland描述马的Y染色体q末端只有一条窄狭的深带。上述这些带的不同是由于地理隔离发生的变化或是由于生殖隔离引起的进化表现，还有待于深入的研究。

（二）异染色质 我们发现大多数染色体的着丝粒区均有块状异染色质、1号p末端和Xq中部有少量异染色质、11对着丝粒区无异染色质，这些结果与Backland（1976）描述的相一致。所见不同的是他们发现第8对染色体中只有1条有异染色质块，而另一条则无。然而我们没有在第8对的两个同源染色体中均未发现有任何异染色质的丢失。相反，在一些细胞中的第5、10两对均有丢失或者一部分同源染色体的异染色质有丢失，而他们则绝没有见到这种现象。我们也未见到12对q上有任何异染色质。这些结果的不同也许是多态或者是自然选择的结果。

（三）**Ag-NOR$_s$** 银染色在细胞化学中已有广泛的应用和很长的历史。Goodpasture（1975）用银染色技术研究9种哺乳动物染色体的Ag-NOR$_s$的分布，而且发现NOR$_s$的分布位置、大小和数目均是变化的。如棉鼠、中国地鼠Don细胞系、Dede细胞系和我们研究的野生中国地鼠骨髓细胞染色体的NOR$_s$均位于末端，而小鼠和人的NOR$_s$则位于着丝粒位置。在猴子（*Saimini Sciureus*）（*Goodpasture, 1975*）细胞中Ag粒在一条染色体上呈块状，另一同源染色体则完全缺。野生中国地鼠细胞的Ag粒一般4—7个，也有8—10个。我们在马中发现Ag粒在2—5个之间。为什么同一动物不同细胞Ag粒变化如此之大呢？一些研究者（施立明等，1973）认为，NOR$_s$的主要功能是产生rRNA，而rRNA又是由18_s+28_s RNA组成，其主要功能是与蛋白质合成有关，即Ag染色的不是rRNA本身而是与转录过程或相结合的蛋白质有关，也就是说转录活性高，Ag粒就增加，反之则减少。这种Ag粒的不同可能是与细胞基因的转录活性有关。

小 结

北京郊区的马（*Equus caballus*）的外周血为材料，对染色体的G带、C带和Ag-NOR$_s$三种带型进行了分析。G带共分析了22个分裂相，对每个染色体的带型进行了简要的描述。

C带 在20个细胞的分析中，绝大多数染色体着丝粒区显示了块状异染色质，但在少数细胞中的5号的两个同源染色体和10号或11号的一个同源染色体则无着丝粒异染色质。除此之外，全部Y、Xq的2/3处和1号p末端亦证明有C带异染色质，这些结果均有助于对个别染色体的识别。

Ag-NOR，50个中期相的分析，有Ag粒的数目波动在2—5个之间，众数占总Ag粒数的34.62%。国内外均未见有马的NOR的观察分析报道。

对上述结果进行了初步的分析。

参考文献

李胜利等　1982　马、驴、骡外周血淋巴细胞的染色体组型研究。动物学杂志　5:24—30。

吴昊等　1964　利用周围血细胞短期培养进行人类染色体研究的方法。天津医药杂志输血及血液学附刊 2(1):53—59。

蔡有余等　1980　中国地鼠(*Cricetulus griseus*)染色体的三种带型。解剖学报11(4)：433—439。

施立明等　1973　小鼠肿瘤细胞染色体核仁组织者(NOR)的细胞化学观察。科学通报 2:93。

Benirschke, K. *et al*. 1964 Chromosome studies of a donkey-grevy zebra hybrid. *Chromosoma* 15: 1—13.

Benirschke, K. *et al*. 1964 Donkey-mountain zebra hybrid. *Chromosoma* 15:300.

Benirschke, K. *et al*. 1965 Chromosome complement difference between *Equus caballus* and *Equus pzewalskii poliakoff*. *Science* 148: 382.

Buckland, R. A. *et al*. 1976 Characterization of the domestic horse (*Equus caballus*) karyotype using G- and C-banding techniques. *Experientia* 32: 1146—1149.

Goodpasture, C. and S. E. Bloom 1975 Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* (Berl.) 53:37—50.

Hsu, T. C. *et al*. 1967 An atlas of mammalian chromosomes. Vol: 1—10. Springer-Verlag, New York.

Ryder, O. A. *et al*. 1978 Chromosome banding studies of the Equidae. *Cytogenet. Cell Genet*. 20: 323—350.

Short, R. V. 1974 Meiosis in interspecific equine hybrids. Ⅱ. The Prywalski horse/domestic horse hybrid. *Cytogenet. Cell Genet*. 13:465—478.

Sumner, A. T. *et al*. 1971 New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature new Biology* 232:31.

THE BANDING PATTERNS OF DOMESTIC HORSE (*EQUUS CABALLUS*) CHROMOSOMES

Cai Youyu Li Shengli Xu Changlong*

(Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

The G-, C-banding patterns & the silver stained nucleolus organizer (NOR's) of chromosomes of domestic horse's (*Equus caballus*) peripheral lymphocytes were studied and described. 22 mitosis were used for G-banding, while the banding patterns of each chromosome were also analysed.

C-banding. Centromeres in most chromosomes among 22 cells showed massive heterochromotin, however, in a few cells two homologue chromosomes of chromosome No. 5 and one homologue chromosome of No. 11 or No. 12 had no heterochromatin. Besides, C-banding heterochromatin was also seen on the locations about 2/3 the lenth of long arm from the centromeres in all X, Y chromosomes and at the end of short arm of No. 1. All of these structures were helpful to identify individual chromosome.

Silver staining. The analyses of 50 mitosis showed that the cells with silver grounds fluctuated between 2 and 5. The modal number was 34.62%. To authors' knowledge, there has heen no description of NOR's of horse.

The results were briefly discussed.

* Xu Langzhong Cancer Prevention and Treatment Unit, Sichuan

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

27 28 29 30 31 XX

图II

a 示Ag — NORs

b示雄马 C带

a

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

27 28 29 30 31 XY



b